中图分类号：R932；R285.5　　文献标志码：A　　文章编号：1006－4931(2024)19－0051－08
doi:10.3969/j.issn.1006－4931.2024.19.012

清宣解毒颗粒治疗流感病毒致急性肺损伤的作用机制研究*

李丹婷[1]，王泽琨[1]，姚妙诗[1]，王雯蕾[2]，郑志慧[2]，张评浒[2]，束雅春[1,3△]

（1. 南京中医药大学附属医院·江苏省中医院，江苏 南京 210029；2. 扬州大学医学院转化医学研究院·江苏省中西医结合老年病防治重点实验室，江苏 扬州 225009；3. 江苏省海滨康复医院，江苏 连云港 222042）

摘要：目的 探讨清宣解毒颗粒治疗流感病毒致急性肺损伤（ALI）的作用机制。**方法** 分别制备甲型流感病毒致 ALI 模型小鼠、脂多糖（LPS）致 ALI 模型小鼠，经药物干预后，观察清宣解毒颗粒对小鼠肺部病变程度、肺指数及小鼠体质量和饮食量变化的影响。通过 TCMSP，PubChem，SwissTargetPrediction 数据库获得清宣解毒颗粒中桑叶、连翘、金银花等 13 味中药的有效成分及其对应靶点，通过 GeneCards 数据库检索获得与流感病毒致 ALI 相关的疾病靶点，通过 Venny 网站构建药物活性成分－疾病共有靶点；通过 String 数据库构建共有靶点蛋白质－蛋白质交互作用（PPI）网络，根据度值筛选核心靶点；通过 Cytoscape 3.6.1 软件构建药物－成分－核心靶点网络；通过 Metascape 数据库对核心靶点进行基因生物过程本体论（GO）功能分析、京都基因与基因组百科全书（KEGG）通路富集分析。**结果** 清宣解毒颗粒具有改善甲型流感病毒致 ALI 模型小鼠肺部病变的趋势，也有减缓 LPS 致 ALI 小鼠体质量下降的趋势。通过网络药理学预测得到清宣解毒颗粒的活性成分 173 种，其中槲皮素、（－）－表没食子儿茶素没食子酸酯、木犀草素、山柰酚、甘乌内酯等可能是治疗流感病毒致 ALI 的关键成分，预测到信号转导和转录激活因子 3、原癌基因酪氨酸蛋白激酶、丝氨酸／苏氨酸蛋白激酶 1、丝裂原活化蛋白激酶 3、肿瘤坏死因子（TNF）等可能是清宣解毒颗粒治疗流感病毒致 ALI 的潜在作用靶点；获得清宣解毒颗粒治疗流感病毒致 ALI 的甲型流感、磷脂酰肌醇－3－激酶（PI3K）－Akt、TNF、C 型凝集素受体、T 淋巴细胞受体等信号通路。**结论** 清宣解毒颗粒可能对 ALI 具有一定治疗作用，其作用机制可能是通过多种成分调控 PI3K－Akt、TNF、C 型凝集素受体等信号通路有关。

关键词：急性肺损伤；甲型流感；清宣解毒颗粒；作用机制；网络药理学

Mechanism of Qingxuan Jiedu Granules in the Treatment of Acute Lung Injury Induced by Influenza Virus

LI Danting[1], WANG Zekun[1], YAO Miaoshi[1], WANG Wenlei[2], ZHENG Zhihui[2], ZHANG Pinghu[2], SHU Yachun[1,3]

(1. Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine · Jiangsu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing, Jiangsu, China 210029; 2. Institute of Transnational Medicine · Jiangsu Key Laboratory of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine for Prevention and Treatment of Senile Diseases, Medical College, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu, China 225009; 3. Jiangsu Province Seaside Rehabilitation Hospital, Lianyungang, Jiangsu, China 222042)

Abstract: Objective To investigate the mechanism of Qingxuan Jiedu Granules in the treatment of acute lung injury (ALI) induced by influenza virus. **Methods** ALI model mice induced by influenza A virus and ALI model mice induced by lipopolysaccharide (LPS) were prepared. After drug intervention, the effects of Qingxuan Jiedu Granules on the lung lesion severity, lung index, and changes in body weight and food intake in mice were observed. The effective ingredients and corresponding targets of 13 traditional Chinese medicines including Mori Folium, Forsythiae Frutus, and Lonicerae Flos in Qingxuan Jiedu Granules were obtained through TCMSP, PubChem, and SwissTargetPrediction databases, the disease targets related to influenza virus－induced ALI were retrieved through GeneCards database, the Venny website was used to construct the drug active－disease target network. The protein－protein interaction (PPI) network of common targets was constructed through the String database. Core targets were screened based on degree values. Drug－Component－core target network was constructed by the Cytoscape 3.6.1 software. Gene Ontology (GO) functional analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis were conducted on the core targets through the Metascape database. **Results** Qingxuan Jiedu Granules exhibited a tendency to improve lung lesions in mice with ALI induced by the influenza A virus, and also showed a trend towards mitigating weight loss in mice with ALI induced by LPS. Through network pharmacology prediction, 173 active ingredients of Qingxuan Jiedu Granules were identified, among which quercetin, (－)－epigallocatechin－3－gallate, luteolin, kaempferol, and gallic acid lactone might be key components in the treatment of lung injury induced by influenza. Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3), proto－oncogene tyrosine－protein kinase Src (SRC), RAC－alpha serine/threonine－protein kinase (AKT1), mitogen－activated

*基金项目：江苏省知识产权战略推进计划项目[GJ20231160_01]；江苏省研究生实践创新计划项目[SJCX22_0759]；南京中医药大学自然科学基金[XZR2020020]。

第一作者：李丹婷，女，硕士研究生在读，研究方向为中药药理与机制，（电子信箱）Lidanting0101@163.com。

△通信作者：束雅春，女，博士研究生，副教授，研究方向为中药炮制及质量标准，（电子信箱）guzheng0512@163.com。

protein kinase 3 (MAPK3), and tumor necrosis factor (TNF) were predicted to be potential targets for Qingxuan Jiedu Granules in the treatment of lung injury induced by influenza. Signaling pathways related to Qingxuan Jiedu Granules in the treatment of lung injury induced by influenza have been obtained, such as influenza A signaling pathway, phosphatidylinositide 3 - kinases (PI3K) - Akt signaling pathway, TNF signaling pathway, C - type lectin receptor signaling pathway, and T cell receptor signaling pathway. **Conclusion** Qingxuan Jiedu Granules may have a certain therapeutic effect on ALI, and its mechanism may be related to the regulation of multiple pathways such as PI3K - Akt signaling pathway, TNF signaling pathway, and C - type lectin receptor signaling pathway through multiple components.

Key words: acute lung injury; influenza A; Qingxuan Jiedu Granules; mechanism; network pharmacology

急性肺损伤(ALI)为临床常见危重症,其发生通常是由多种诱因引起的急性、进行性呼吸功能不全,严重者可能出现急性呼吸窘迫综合征[1]。ALI最常见的致病原因为流感病毒(尤其是甲型流感病毒)感染,临床表现为急性肺水肿和广泛的肺部炎症[2-4],甚至会发展为全身性过度炎性反应(又称细胞因子风暴),是ALI致死的重要因素[5]。目前,临床治疗ALI的常用方法包括机械通气、糖皮质激素药物、血管扩张剂、体外膜肺氧合及其他支持治疗措施[6]。但这些治疗方法存在不良反应,且治疗费用较高。故寻找更安全、更有效的ALI治疗策略成为研究的重点。网络药理学可根据系统生物学理论分析生物系统的相互作用,其系统性、整体性和重视药物多途径调节信号通路的特点符合中医理论的基本特征[7],适用于研究中药的有效成分及作用机制。中医学认为,ALI的病因病机为热毒和瘀血,提出了清热解毒、活血化瘀的治疗原则[8];流感的病机主要为风热疫毒犯肺或温病等,故以辛凉解表和清热解毒为治则,并结合当地气候及患者自身情况辨证论治[9]。清宣解毒颗粒由桑叶、菊花、连翘、金银花、桔梗、杏仁、蜜枇杷叶、麻黄、柴胡、马鞭草、芦根、太子参、甘草13味中药组方,可疏风清热、宣肺化痰、扶正祛邪,用于治疗外感风热或风寒化热所致咽痛、咳嗽、发热、鼻塞、流涕、乏力等流行性感冒及上呼吸道感染等证[10-11]。该方根据流感的临床特点,结合中医温病理论,由经典名方桑菊饮、银翘散、三拗汤化裁而来[12-14]。经临床应用,疗效良好,但其治疗ALI的药效及作用机制尚未明确。本研究中探讨了清宣解毒颗粒对甲型流感病毒H1N1和脂多糖(LPS)致ALI模型小鼠的作用,并利用网络药理学发掘其治疗流感病毒致ALI的潜在成分及靶点,初步探讨其作用机制。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 动物、病毒与试药

动物:清洁级15~16 g雌性F1(ICR*BALB/C)健康小鼠42只,5~6周龄;清洁级18~20 g雄性C57BL/6健康小鼠40只,6~8周龄。由扬州大学比较医学中心提供,许可证号为SCXK(苏)2022-0009,使用许可证号为SYXK(苏)2017-0044。本研究经扬州大学实验动物伦理委员会批准(批准件号:202208007),实验设计及实施过程严格遵循3R原则。小鼠饲养在独立通风笼中,12 h/12 h光照/黑暗循环,温度保持在(22±2)℃,相对湿度为50%~60%,自由进食、饮水。

病毒:季节性甲型流感病毒H1N1(A/FM/1/47)毒株由扬州大学农业部畜禽传染病重点实验室提供。通过Reed-Muench方法确定小鼠中病毒的50%致死剂量(LD_{50}),收集病毒原种,并保存于-80 ℃以下。所有实验均在扬州大学的生物安全2级实验室进行。

试药:清宣解毒颗粒(医院制剂,批号为22204001,规格为每1 g相当于饮片2.28 g);磷酸奥司他韦颗粒(宜昌东阳光长江药业股份有限公司,批号为6002207058,规格为每粒以奥司他韦计15 mg);连花清瘟胶囊(石家庄以岭药业股份有限公司,批号为B2101296,规格为每粒0.35 g);氯化钠(CAS号为7647-14-5,批号为20211213,规格为每瓶500 g),十二水合磷酸氢二钠(CAS号为10039-32-4,批号为20180111,规格为每瓶500 g),氯化钾(CAS号为7447-40-7,批号为20200904,规格为每瓶500 g),磷酸二氢钾(CAS号为7758-11-4,批号为20200416,规格为每瓶500 g),乙醚(CAS号为60-29-7,批号为20111117,规格为每瓶500 mL),均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司;磷酸盐缓冲液(PBS,氯化钠8 g、氯化钾0.2 g、十二水合磷酸氢二钠1.44 g、磷酸二氢钾0.24 g溶于1 L去无菌离子水);LPS(美国Sigma Aldrich公司,来源于大肠杆菌055:B5,批号为0000189842,规格为100 mg,溶于PBS);醋酸地塞米松片(浙江仙琚制药股份有限公司,批号为LB2237,规格为每片0.75 mg)。

1.2 方法

甲型流感病毒致ALI模型制备与给药:将42只雌性F1小鼠随机分为空白组、模型组、奥司他韦组、连花清瘟组及清宣解毒颗粒低、中、高剂量组[15-16],各6只。适应性饲养3 d后,用乙醚麻醉小鼠,并鼻内接种5倍LD_{50}剂量的病毒悬浮液(A/FM/1/47,H1N1,小鼠适应株),完成造模,空白组不做任何处理。小鼠完成造模后当天开始灌胃给药,每天2次,连续5 d。空白组和模型组小鼠灌胃等量纯水,清宣解毒颗粒低、中、高剂量

组小鼠分别灌胃 3，6，9 g / kg 清宣解毒颗粒，奥司他韦组小鼠灌胃磷酸奥司他韦颗粒水溶液 19. 5 mg / kg，连花清瘟组小鼠灌胃连花清瘟胶囊水溶液 1 g / kg。造模后第 7 天，取各组小鼠的肺组织，吸干肺组织表面水分，称定质量，检测各组小鼠的肺指数。肺指数 = 小鼠肺质量(g) / 体质量(g)。若小鼠肺组织充血面积和肺指数较空白组显著增加，则造模成功。

LPS 致 ALI 模型制备与给药：将 40 只雄性 C57BL / 6 小鼠随机分为空白组、模型组、地塞米松组及清宣解毒颗粒 3. 5 g / kg 组、4. 0 g / kg 组[17]，各 8 只。适应性饲养 3 d 后，用乙醚麻醉小鼠，用 50 mg / kg LPS 溶液滴鼻造模，制备 LPS 致 ALI 模型小鼠，空白组不做任何处理。小鼠完成造模后当天开始灌胃给药，每天 1 次，连续 5 d。空白组、模型组小鼠灌胃等量纯水，清宣解毒颗粒 3. 5 g / kg 组、4. 0 g / kg 组小鼠分别灌胃 3. 5，4. 0 g / kg 清宣解毒颗粒，地塞米松组小鼠灌胃地塞米松片水溶液 2 mg / kg。观察小鼠造模后 7 d 内的体质量和饮食量变化。若造模后小鼠出现体质量减轻、进食和活动减少等现象，则建模成功。

清宣解毒颗粒治疗流感网络药理学预测：通过 TCMSP 数据库(https：// old. tcmsp - e. com / tcmsp. php)检索清宣解毒颗粒方中桑叶、菊花、连翘、金银花、桔梗、杏仁、蜜枇杷叶、麻黄、柴胡、马鞭草、芦根、太子参、甘草的有效成分，筛选条件设为生物利用度(OB) ≥ 30% 且类药性(DL) ≥ 0. 18。查阅文献，补充不符合筛选条件却是上述中药主要功效成分或已报道的具有抗流感或抗病毒、抗炎相关作用的化合物，作为有效活性成分。通过 TCMSP 数据库进一步收集有效活性成分靶点；TCMSP 数据库中无靶点的活性成分，利用 PubChem 数据库(https：// pubchem. ncbi. nlm. nih. gov /)和 SwissTargetPrediction 数据库(http：// swisstargetprediction. ch /)进行搜索。以“acute lung injury”“influenza”为关键词，在 GeneCards 数据库(https：// www. genecards. org /)中检索疾病相关靶点。通过 Venny 网站(https：// bioinfogp. cnb. csic. es / tools / venny /)在线分析清宣解毒颗粒有效活性成分靶点与疾病靶点的共有靶点，得清宣解毒颗粒治疗流感的潜在靶点。将共有靶点导入 String 数据库(https：// cn. string - db. org /)，限定物种为“人”，设定置信度 high confidence 为 0. 700，其他参数设为默认，构建蛋白质 - 蛋白质交互作用(PPI)网络。将 PPI 网络中不小于平均度(dgree)值的靶点作为核心靶点，导入 Cytoscape 3. 6. 1 软件构建药物 - 成分 - 核心靶点网络。将核心靶点导入 Metascape 数据库(http：// metascape. org /)，进行基因生物过程本体论(GO)功能分析和京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析。利用微生信在线绘图平台(https：// www. bioinformatics. com. cn)对 GO 功能分析和 KEGG 通路富集分析结果进行可视化。

1. 3 统计学处理

采用 SPSS 17. 0 统计学软件分析。计量资料以 $\overline{X} \pm s$ 表示，采用独立样本单因子变异数分析(One - Way ANOWA)法进行多组间比较。检验水准 $\alpha = 0.05$，$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2. 1 对甲型流感病毒致 ALI 模型小鼠的作用

观察小鼠的发病情况、肺组织整体病变情况及对肺指数进行考察。结果清宣解毒颗粒治疗组小鼠的临床症状较模型组改善明显。造模 3 d 后，模型组小鼠出现明显临床症状，如毛色粗糙、不活动、食量减少、体质量减轻、呼吸困难等。而予清宣解毒颗粒治疗，可减轻以上症状。与空白组相比，模型组小鼠的肺组织出现水肿和充血情况；与模型组相比，清宣解毒颗粒低、中剂量组小鼠肺组织的水肿和充血病变情况减轻。详见图 1。与空白组相比，模型组小鼠的肺指数显著升高($P < 0.05$)；与模型组相比，奥司他韦组小鼠的肺指数显著降低($P < 0.05$)；清宣解毒颗粒低、中剂量组小鼠的肺指数有降低趋势，但无显著差异($P > 0.05$)。详见图 2 和表 1。可见，清宣解毒颗粒对流感病毒致 ALI 模型小鼠可能有保护作用。

2. 2 对 LPS 致 ALI 模型小鼠的作用

通过对小鼠 7 d 内的体质量和饮食量变化进行考察。结果清宣解毒颗粒治疗组小鼠的临床症状较模型

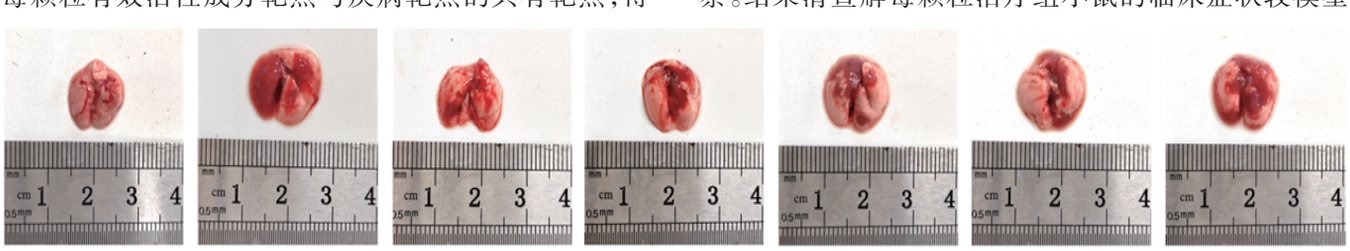
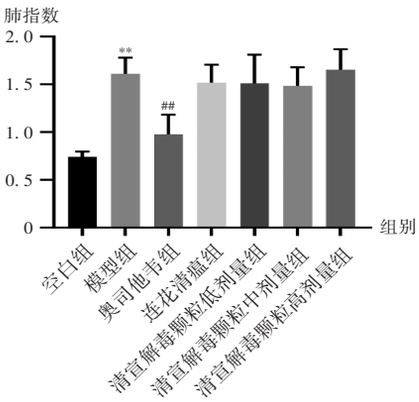


图 1 各组小鼠肺组织病变情况

Fig. 1 Pathological changes in lung tissue of mice in each group



注：与空白组比较，$^{*}P < 0.05$，$^{**}P < 0.01$；与模型组比较，$^{\#}P < 0.05$，$^{\#\#}P < 0.01$。表 1 和表 2 同。

图 2　各组小鼠肺指数比较（$\bar{X} \pm s$，$n = 6$）

Note: Compared with those in the blank group, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$; Compared with those in the model group, $^{\#}P < 0.05$, $^{\#\#}P < 0.01$ (for Fig. 2 and Tab. 1- 2).

Fig. 2　Comparison of lung indexes of mice in each group ($\bar{X} \pm s$, $n = 6$)

表 1　各组小鼠肺指数变化情况（$n = 6$）

Tab. 1　Comparison of lung indexes of mice in each group ($n = 6$)

序号	空白组	模型组	奥司他韦组	连花清瘟组	清宣解毒颗粒低剂量组	清宣解毒颗粒中剂量组	清宣解毒颗粒高剂量组
1	0.81	1.45**	0.57$^{\#\#}$	1.53	1.94	1.69	1.47
2	0.68	1.49**	1.02$^{\#\#}$	1.43	1.42	1.64	1.60
3	0.69	1.54**	1.08$^{\#\#}$	1.42	1.43	1.36	1.82
4	0.77	1.60**	1.11$^{\#\#}$	1.40	1.80	1.24	1.52
5	0.79	1.91**	0.98$^{\#\#}$	1.45	1.13	1.34	2.01
6	0.71	1.69**	1.11$^{\#\#}$	1.89	1.35	1.65	1.51

组改善明显。造模 3 d 后，模型组小鼠出现毛色粗糙、不活动、呼吸困难等临床症状，予清宣解毒颗粒后上述症状缓解。与空白组相比，模型组小鼠造模后第 5 天的体质量极显著降低（$P < 0.01$），表明模型组小鼠发病严重；与模型组相比，清宣解毒颗粒 4.0 g / kg 组或地塞米松组小鼠的体质量有增加趋势，但无显著差异（$P > 0.05$）。详见图 3 和表 2。与模型组相比，清宣解毒颗粒 4.0 g / kg 组或地塞米松组小鼠造模后第 3 ~ 5 天的饮食量有增加趋势，但无显著差异（$P > 0.05$）。详见图 4 和表 3。可见，清宣解毒颗粒对 LPS 致 ALI 模型小鼠有保护作用。

2.3　作用机制的网络药理学研究

共有靶点分析：基于 TCMSP 数据库及文献，共检索到 232 种清宣解毒颗粒组方中药的有效活性成分，其成分对应靶点 617 个。基于 GeneCards 数据库，共检索到 2 728 个与流感病毒致 ALI 相关的靶点。利用 Venny 网站在线分析到共有靶点 242 个，详见图 5。

共有靶点 PPI 网络构建：采用 String 数据库和 Cytoscape 3.6.1 软件构建的共有靶点 PPI 网络见图 6，去除 PPI 网络中的游离节点后有 226 个节点。其中，节点代表

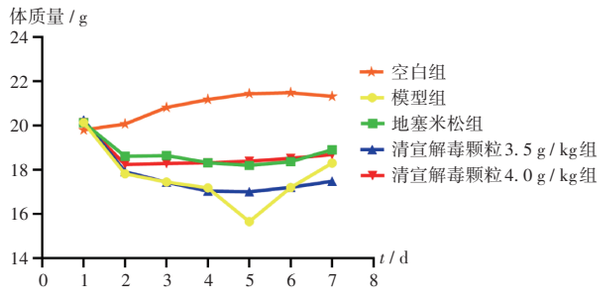


图 3　各组小鼠体质量变化趋势

Fig. 3　Changes in body mass of mice in each group

表 2　各组小鼠体质量比较（$\bar{X} \pm s$，g，$n = 8$）

Tab. 2　Comparison of body mass of mice in each group ($\bar{X} \pm s$, g, $n = 8$)

时间	空白组	模型组	地塞米松组	清宣解毒颗粒 3.5 g / kg 组	清宣解毒颗粒 4.0 g / kg 组
1 d	19.80 ± 1.18	20.14 ± 0.82	20.13 ± 0.78	20.25 ± 0.77	20.13 ± 1.00
2 d	20.00 ± 1.34	17.83 ± 1.59*	18.61 ± 0.97	17.91 ± 1.15	18.24 ± 1.84
3 d	20.83 ± 1.61	17.45 ± 2.74*	18.65 ± 0.95	17.44 ± 1.80	18.29 ± 2.86
4 d	21.18 ± 1.88	17.18 ± 3.07*	18.33 ± 1.20	17.04 ± 2.48	18.33 ± 3.28
5 d	21.45 ± 2.00	15.65 ± 2.43**	18.20 ± 0.91	17.00 ± 3.01	18.39 ± 3.21
6 d	21.49 ± 1.97	17.20 ± 2.76*	18.38 ± 0.50	17.20 ± 3.36	18.53 ± 4.14
7 d	21.33 ± 2.11	18.30 ± 2.68*	18.90 ± 0.62	17.48 ± 3.22	18.69 ± 4.16

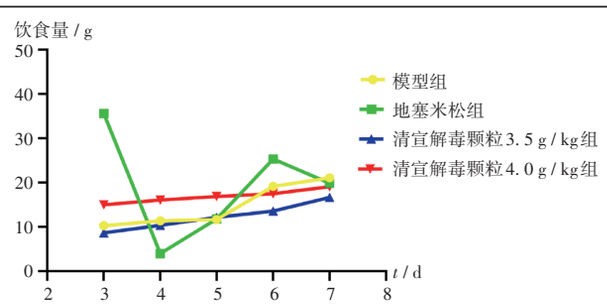


图 4　各组小鼠每日饮食量变化趋势

Fig. 4　Changes in daily dietary intake of mice in each group

表 3　各组小鼠每日饮食量变化比较（g）

Tab. 3　Comparison of daily dietary intake of mice in each group (g)

时间	模型组	地塞米松组	清宣解毒颗粒 3.5 g / kg 组	清宣解毒颗粒 4.0 g / kg 组
3 d	10.30	35.60	8.70	15.00
4 d	11.40	4.00	10.40	16.10
5 d	11.70	11.83	12.20	16.90
6 d	19.20	25.37	13.60	17.50
7 d	21.10	19.90	16.67	19.10

潜在靶点，节点与节点间的连线代表蛋白质与蛋白质有相互作用，节点大小和颜色随 degree 值调整，degree 值越大，节点越大、颜色越偏向暖色；节点间的连线随两节点的作用强弱调整，作用越强，连接线越粗、颜色越偏向冷色。Degree 值排名前 10 的靶点有信号转导和转录激活因子 3（STAT3）、原癌基因酪氨酸蛋白激酶

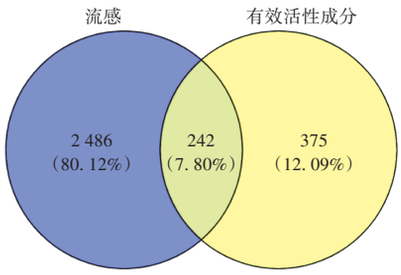


图 5　清宣解毒颗粒有效活性成分靶点与流感靶点维恩图

Fig. 5　Venn diagram of active component targets of Qingxuan Jiedu Granules and influenza - related targets

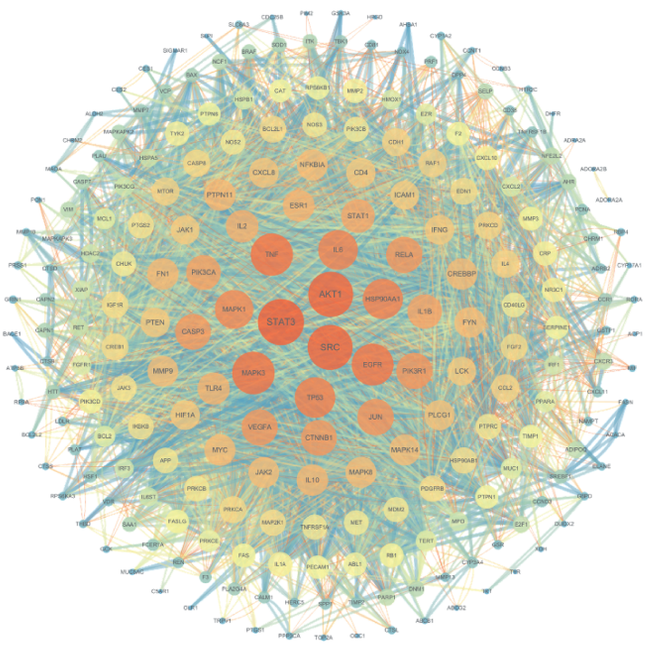


图 6　共有靶点 PPI 网络

Fig. 6　PPI network of common targets

表 4　度值排名前 10 的有效成分

Tab. 4　Top 10 active components in terms of degree value

编号	名称	归属	生物利用度(%)	类药性
MOL000098	槲皮素(quercetin)	多种中药共有	46. 43	0. 28
MOL006821	(-)-表没食子儿茶素没食子酸酯[(-)-epigallocatechin-3-gallate]	枇杷叶	55. 09	0. 77
MOL000006	木犀草素(luteolin)	多种中药共有	36. 16	0. 25
MOL000422	山柰酚(kaempferol)	多种中药共有	41. 88	0. 24
MOL004905	甘乌内酯(glyuranolide)	甘草	34. 32	0. 55
MOL003172	7-chloroarctinone B	芦根	40. 17	0. 09
MOL000500	驴食草酚(vestitol)	甘草	74. 66	0. 21
MOL000173	汉黄芩素(wogonin)	连翘	30. 68	0. 23
MOL000358	β-谷甾醇(beta-sitosterol)	多种中药共有	36. 91	0. 75
MOL000354	异鼠李素(isorhamnetin)	多种中药共有	49. 6	0. 31

(SRC)、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 1(Akt1)、丝裂原活化蛋白激酶 3(MAPK3)、肿瘤坏死因子(TNF)、表皮生长因子受体(EGFR)、抑癌蛋白 p53(TP53)、热休克蛋白 90α 家族 A 类成员 1(HSP90AA1)、白细胞介素 6(IL-6)、MAPK1，这些靶点可能是清宣解毒颗粒治疗流感病毒致 ALI 的核心靶点。

药物-成分-核心靶点网络构建：采用 Cytoscape 3. 6. 1 软件构建药物-成分-靶点网络。共有 173 种成分与共有靶点产生联系(见图 6)。图中两节点间的连线表示其相互关系，节点大小表示与其他节点的相关度大小。节点的 degree 值越大，表明该节点在网络关系中的影响越大，degree 值排名前 10 的有效成分见表 4。其

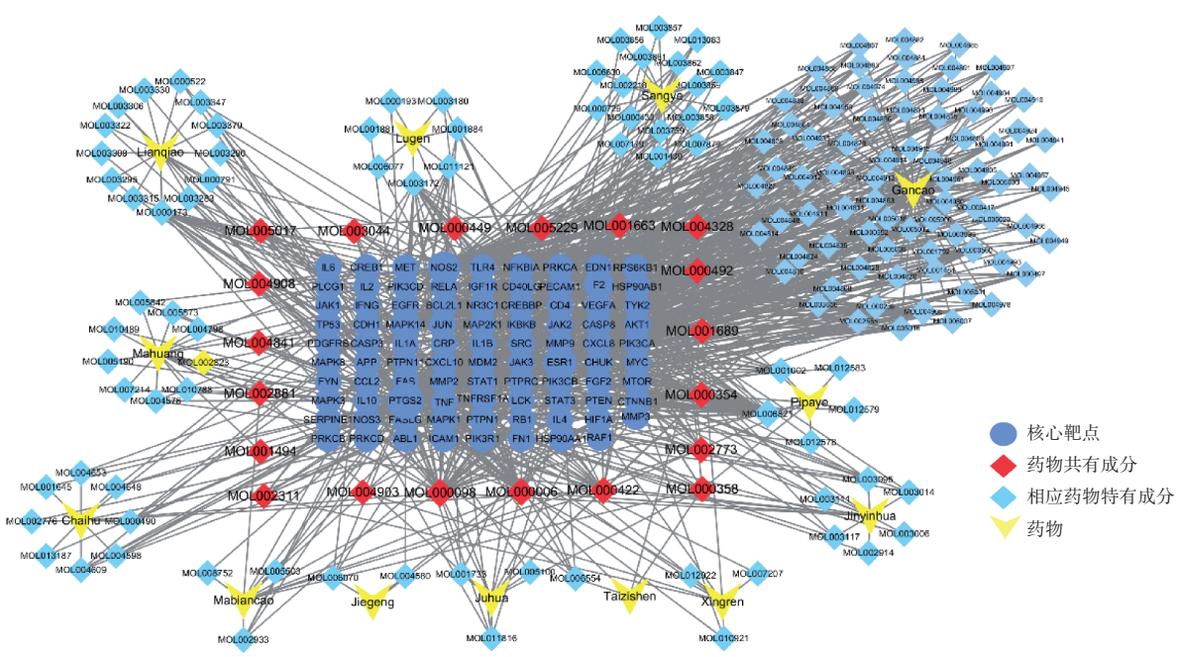


图 7　药物-成分-核心靶点网络图

Fig. 7　Drug - component - core target network

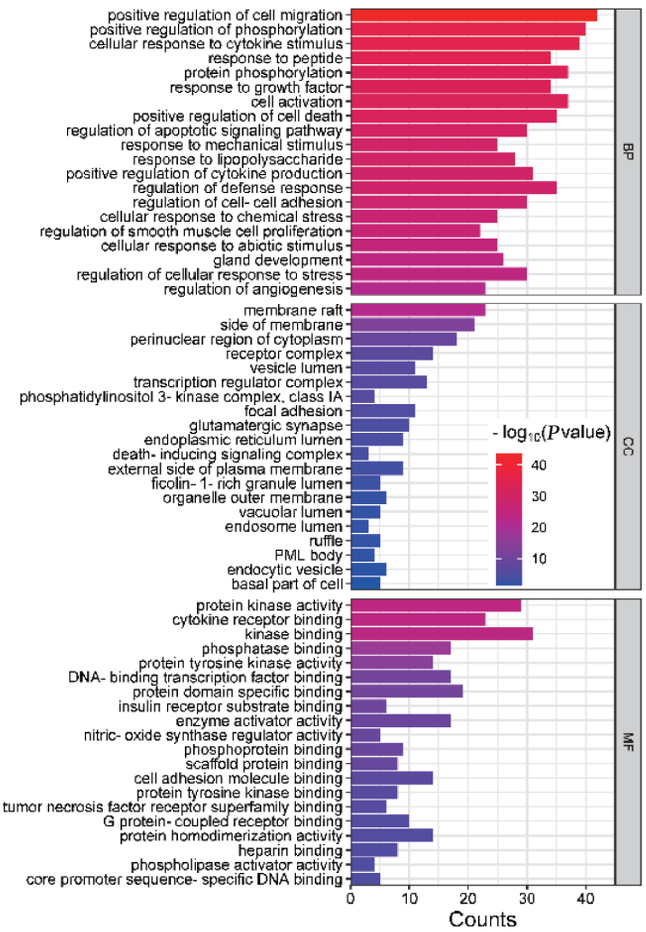


图8 GO功能分析条形图

Fig. 8 Bar chart of the GO function analysis

中，排名前5的槲皮素、(－)－表没食子儿茶素没食子酸酯、木犀草素、山柰酚、甘乌内酯可能是清宣解毒颗粒治疗流感病毒致ALI的关键成分。在其网络中，共有靶点degree值排名前5的分别为STAT3，SRC，Akt1，MAPK3，TNF，这些靶点可能是清宣解毒颗粒治疗流感病毒致ALI的潜在作用靶点。

GO功能分析与KEGG通路富集分析：GO功能分析条形图见图8。生物过程(BP)显示，清宣解毒颗粒治疗流感病毒致ALI的靶点主要与细胞迁移的正向调节、磷酸化的正向调节、细胞对细胞因子刺激的反应、对肽的反应、蛋白质磷酸化等有关；细胞组分(CC)分析显示，清宣解毒颗粒治疗流感病毒致ALI可能作用于膜筏、薄膜侧面、细胞质核周区、受体复合物、囊泡腔等部位；分子功能(MF)分析显示，清宣解毒颗粒治疗流感病毒致ALI可能主要与蛋白激酶活性、细胞因子受体结合、激酶结合、磷酸酶结合、酪氨酸蛋白激酶(JAK)活性等有关。KEGG通路富集分析得到188条通路，选取与流感病毒相关的通路按$\log_{10}$(*P*value)值从小到大[$\log_{10}$(*P*value)值越小相关性越大]进行排序，结果见图9。可见，清宣解毒颗粒治疗流感病毒致ALI的作用机制主要与甲型

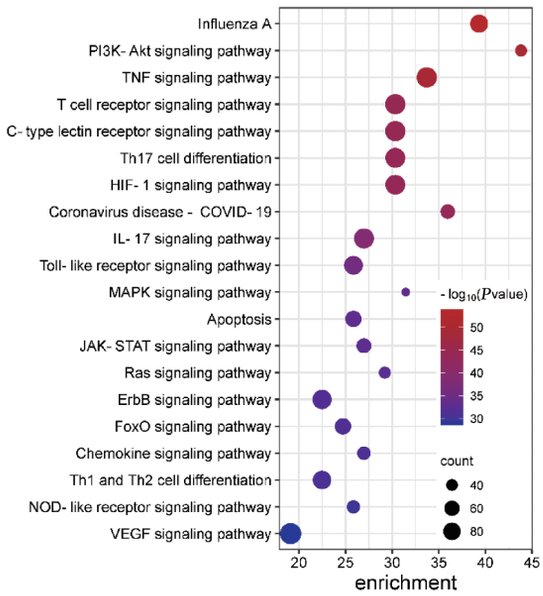


图9 KEGG通路富集分析气泡图

Fig. 9 Bubble plot of the KEGG pathway enrichment analysis

流感、磷脂酰肌醇－3－激酶(PI3K)－Akt、TNF、C型凝集素受体、T淋巴细胞受体等信号通路有关。

3 讨论

LPS作为革兰阴性菌外膜的主要成分，是ALI的关键诱导剂，在呼吸系统引起细胞因子风暴，也是经典的肺部炎症造模药物，适用于研究细胞因子相关的药效及作用机制[18]。ALI可由流感病毒或LPS等病原体刺激肺上皮细胞和巨噬细胞后产生，其产生的肺部及全身的广泛炎症效应是ALI致命的因素[19]。此疾病反应的激活依赖于Toll样受体3(TLR3)、TLR7识别病毒核糖核酸(RNA)后，激活核因子κB(NF－κB)的炎性反应和抗病毒反应[20]。在甲型流感病毒感染者的ALI不良预后中，炎性因子IL－1β，IL－18，TNF－α，IL－6的水平均相应升高，这也是细胞因子风暴发生的原因[21－22]。由于病原体导致的细胞因子风暴可诱导肺上皮损伤及多器官功能衰竭，导致发病率和死亡率升高[20]，故抑制广泛的炎性效应是治疗ALI的关键。

清宣解毒颗粒由经典名方桑菊饮、银翘散、三拗汤化裁而来。有研究发现，桑菊饮对LPS诱导的ALI模型小鼠有保护作用，同时可下调炎性因子IL－6和TNF－α及肺组织中p38 MAPK和NF－κB p65蛋白的表达[23]；桑菊饮可显著提高小鼠的胸腺、脾脏指数，增强淋巴细胞的增殖能力和巨噬细胞的吞噬功能，具有抗菌和增强机体免疫活性的作用，可防治上呼吸道感染等症[24]；银翘散对流感病毒感染致重症肺炎模型小鼠的肺组织有修复炎性病变的作用，其作用机制可能为抑制炎性因子IL－6，IL－1，TNF－α的分泌[25]。本研究结果显示，清宣解毒颗粒低、中剂量组小鼠的肺指数较模型组

有下降趋势，同时能缓解肺外部形态的充血、水肿状态，表明清宣解毒颗粒可能具有抗肺损伤的作用。此外，还发现LPS处理后的小鼠体质量急剧下降，同时饮食量也下降，可能是小鼠在炎性反应下咽喉水肿而致饮食量减少，用清宣解毒颗粒治疗后，其饮食量呈缓慢增长趋势，体质量未急剧下降，表明清宣解毒颗粒能缓解LPS致炎性反应的相应症状。综合2种ALI模型的实验结果发现，清宣解毒颗粒可能是通过缓解过度炎症的作用治疗ALI的。

流感病毒是引起ALI的常见因素之一，本研究中通过网络药理学对清宣解毒颗粒治疗流感病毒致ALI的活性成分和作用机制进行了预测。在得出的关键成分中，已有文献总结了槲皮素治疗流感是在体内抗炎调节免疫，调控自噬和凋亡，抑制病毒神经氨酸酶、血凝素活性等方面发挥作用[26]。同时也有体外实验证明了木犀草素的抗甲型流感作用是通过调控PI3K－Akt信号通路实现的[27]。JAK－STAT信号通路是与流感相关的重要通路，其激活可在体内流感病毒感染时起到抗病毒和免疫调控作用[28]。病毒感染后，T淋巴细胞会通过抗原识别而表达TNF－α，在清除病毒的同时造成炎性浸润和肺损伤，故TNF信号通路也被认为是与流感及炎症相关的重要通路[29]。KULDO等[30]研究发现，病毒感染或多种细胞因子（如TNF－α和IL－1β）可激活促炎细胞因子，MAPK信号传导在参与调节促炎细胞因子过程中起关键作用。在体内实验中已发现，清宣解毒颗粒可能具有治疗流感和LPS致ALI的作用。结合网络药理学关键靶点与KEGG通路富集分析结果可推测，清宣解毒颗粒的抗炎及治疗ALI的机制可能主要与PI3K－Akt，JAK－STAT，MAPK，TNF等炎性相关信号通路有关。但体内实验都只在药效动力学上进行了探讨，后续研究需深入进行体内理化指标的检测，并在上述相关性较大的信号通路进行体内外作用机制的验证。

综上所述，清宣解毒颗粒可能具有治疗ALI的作用，网络药理学预测可能是通过其槲皮素、木犀草素等成分作用于PI3K－Akt，TNF，JAK－STAT，MAPK信号通路而起作用。此发现为清宣解毒颗粒后续的药理学研究开拓了新思路，也为其在临床治疗ALI提供了理论支持。

参考文献

[1] 王逸凡，杨居崩，赵显芳，等．银翘散对急性肺损伤模型小鼠肺损伤的改善及作用机制[J]．中国药业，2022，31(9)：35－39.
[2] YU W，ZENG M，XU P，et al. Effect of paeoniflorin on acute lung injury induced by influenza A virus in mice. Evidences of its mechanism of action[J]. Phytomedicine，2021，92：153724.
[3] SHORT KR，KROEZE E，FOUCHIER R，et al. Pathogenesis of influenza－induced acute respiratory distress syndrome [J]. Lancet Infect Dis，2014，14(1)：57－69.
[4] 陈金凤，何　军，徐　涛．基于流感发病机制的药物研究进展[J]．中国药理学通报，2021，37(5)：606－612.
[5] LABELLA AM，MEREL SE. Influenza[J]. Med Clin North Am，2013，97(4)：621－645.
[6] MOKRA D. Acute lung injury－from pathophysiology to treatment[J]. Physiol Res，2020，69(Suppl 3)：S353－S366.
[7] 解　静，高　杉，李　琳，等．网络药理学在中药领域中的研究进展与应用策略[J]．中草药，2019，50(10)：2257－2265.
[8] 赖桂花，谭金曲，李萌萌，等．血必净注射液对LPS诱导的急性肺损伤大鼠炎症反应及细胞凋亡的影响[J]．湖南中医药大学学报，2024，44(4)：538－544.
[9] 陈晓蓉，陆云飞，杨宗国，等．新型H7N9禽流感中医证候特点分析[J]．中华中医药杂志，2013，28(7)：1929－1932.
[10] 刘旭凌，李　季，邵周俊，等．桑菊饮加减合银翘散治疗流感病毒感染外感发热的临床研究[J]．中国中医急症，2023，32(10)：1733－1736.
[11] 李　力．中医对肺炎的辨证治疗研究[J]．内蒙古中医药，2013，32(32)：7.
[12] 韦桂宁，李　敏．图解温病条辨[M]．北京：中医古籍出版社，2018：8－9.
[13] 王　付．儿科选方用药技巧[M]．郑州：河南科学技术出版社，2014：38－39.
[14] 吴　瑭，清．温病条辨[M]．张志斌，注解．福州：福建科学技术出版社，2010：27－28.
[15] 王瑭琪，韩瑞雯，程雪婷，等．甲型流感病毒H1N1血凝素茎部亚单位疫苗与不同佐剂组合在小鼠中诱导的免疫应答与保护[J]．病毒学报，2024，40(1)：1－12.
[16] ZHANG Y，WANG R，SHI W，et al. Antiviral effect of fufang yinhua jiedu (FFYH) granules against influenza A virus through regulating the inflammatory responses by TLR7/MyD88 signaling pathway[J]. J Ethnopharmacol，2021，275：114063.
[17] 段倩雯，董旭鹏，马　源，等．WIN55212－2通过调控mTOR/HIF－1α/PFKFB3信号通路抑制糖酵解并减轻脓毒症小鼠急性肺损伤[J]．中国病理生理杂志，2024，40(3)：521－526.
[18] JIANG Q，YI M，GUO Q，et al. Protective effects of polydatin on lipopolysaccharide－induced acute lung injury through TLR4－MyD88－NF－kappaB pathway[J]. Int Immunopharmacol，2015，29(2)：370－376.
[19] TATE MD，SCHILTER HC，BROOKS AG，et al. Responses of mouse airway epithelial cells and alveolar macrophages to virulent and avirulent strains of influenza A virus[J]. Viral Immunol，2011，24(2)：77－88.
[20] LAGHLALI G，LAWLOR KE，TATE MD. Die Another Way：Interplay Between Influenza A Virus，Inflammation and Cell Death[J]. Viruses，2020，12(4)：401.
[21] WANG Z，ZHANG A，WAN Y，et al. Early hypercytokinemia is associated with interferon－induced transmembrane protein－3 dysfunction and predictive of fatal H7N9 infection[J]. Proc Natl Acad Sci U S A，2014，111(2)：769－774.
[22] GUO J，HUANG F，LIU J，et al. The Serum Profile of Hypercytokinemia Factors Identified in H7N9－Infected Patients can Predict Fatal Outcomes[J]. Sci Rep，2015，5：10942.